پژوهش‌های حبوبات ایران
سال(دوره)۱۱ شمارهٔ۱، نیمهٔ اوّل ۱۳۹۹
صفحهٔ ۱۹۷-۱۸۷، نوع مقاله: پژوهشی

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 11, No. 1, 2020, p. 187-197 (Research Article)
DOI: 10.22067/ijpr.v11i1.73059

کاهش اثرات کم‌آبیاری بر رشد و عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.) توسط اسپرمیدین

وحید شریفی[1]، منوچهر قلی‌پور[2]* و حمید عباس‌دخت[3]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد آگرواکولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شهرستان شاهرود، استان سمنان، ایران؛ vsharifi543@gmail.com

۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شهرستان شاهرود، استان سمنان، ایران

۳- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شهرستان شاهرود، استان سمنان، ایران؛ habbasdokht@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۹

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر اسپرمیدین بر برخی صفات کمی و کیفی نخـود در شـرایط فاریـاب، مطالعـه‌ای در دانشـکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال۱۳۹۵ انجام شد. آزمایش به‌صورت کرت‌های خُردشده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. عوامل آزمایش شامل رژیم آبیاری در سه سطح (دور آبیاری هفت‌روز (شاهد)، دور آبیاری ۱۰روز و دور آبیاری ۱۳روز) و محلول‌پاشی برگی اسپرمیدین در سه سطح (شاهد، محلول‌پاشی با غلظت ۰/۳میلی‌مـولار و محلول‌پاشی با غلظت ۰/۶میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که درشرایط استفاده از غلظت ۰/۳میلی‌مولار اسپرمیدین، فعالیت آنزیم کاتالاز ۴۸درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. در غلظت ۰/۶میلی‌مولار اسپرمیدین، تغییر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم وجود نداشت. در دور آبیاری ۱۳روز، غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶میلی‌مولار اسپرمیدین باعث شد که فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز به ترتیب ۳۸درصد و ۶۷درصد کاهش یابد و در مقابل، محتوای نسبی کلروفیـل بـرگ بـه ترتیـب ۱۲درصـد و ۲۴درصد افزایش نشان دهد. این افزایش در صفات تعداد غلاف در بوته (به ترتیـب ۲۳درصـد و ۳۱درصـد)، زیسـت‌تـوده (۲۳درصد و ۴۴درصد)، عملکرد دانه (۲۰درصـد و ۳۴درصـد) و پـروتئین دانـه (۳درصـد و ۶درصـد) نیـز مشـاهده شـد. اسپرمیدین ۰/۶میلی‌مولار به‌عنوان بهترین سطح تیمار برای شرایط وجود و عدم‌وجود تنش خشکی شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: رادیکال‌های آزاد، فتوسنتز، کارآیی استفاده از آب

مقدمه

حبوبات زیرگروه لگـوم‌هـا بـوده و بـه‌طـور گسـترده‌ای در سرتاسـر جهـان مـورد کشـت قـرار مـی‌گیرنـد (Padhi & Ramdath, 2017). نخـود (*Cicer arietinum* L.) بـه‌همـراه لوبیـا (*Phaseolus vulgaris* L.)، عـدس (*Lens culinaris* L.) و نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) از مهم‌ترین حبوبـات به‌شمار می‌آیند (Padhi & Ramdath, 2017). میـزان تولیـد نخود در جهان حدود ۱۷درصد تولید حبوبات برآورد شده است (Padhi & Ramdath, 2017).

از نقطه‌نظر زراعی، تنش خشکی شرایطی است کـه آب از نظر مقدار و توزیع به‌اندازه‌ای نیست تا گیاه بتواند عملکرد بالقوه خود را تولید نماید و این امر موجب آسیب به گیاه و محدودیت در بـروز پتانسـیل ژنتیکـی عملکـرد مـی‌شـود. تغییـر صـفات مورفولوژیکی و فیزیولـوژیکی از مهـم‌تـرین مکانیسـم‌هـا بـرای سازگاری گیاه بـه شـرایط تـنش خشـکی اسـت (Liu *et al.*, 2011). پژوهش‌های زیادی در خصوص واکنش نخود بـه تـنش خشکی انجام شده است که نتایج آن‌هـا بـر کـاهش عملکـرد و اجـزای عملکـرد (Goldani & Rezvani, 2007) و تغییـر در محتوای اسید آبسـیزیک بـرگ (Kafi *et al.*, 2006)، کـارآیی مصـرف آب (Singh *et al.*, 1991)، و مورفولـوژی ریشــه (Kashiwagi *et al.*, 2005) دلالت دارد. اخیـراً در پژوهشـی، با محلول‌پاشی اسپرمین و اسپرمیدین برروی نخود تحت شرایط تنش شوری مزرعه توانسته‌اند تأثیر منفـی تـنش شـوری را بـر نخـود کـاهش دهنـد (Ashori *et al.*, 2019). از ایـن‌رو ایـن سؤال مطرح شد که آیا اسپرمیدین می‌تواند اثر تنش خشکی را بر نخود کاهش دهد؟

به‌طوری‌که در بالا به‌آن اشاره شد، در شرایط کمبـود آب، تغییرات فیزیولوژیکی و کاهش رشد درگیاه به‌وقوع مـی‌پیونـدد. یکی از دلایل این کاهش، عدم تعادل بین جذب و استفاده از نور در گیـاه تحـت تـنش اسـت (Noctor *et al.*, 2017). کـاهش فعالیت فتوسیستمII در اثر تنش کم‌آبی، باعث ازبین‌رفتن تعادل بـین تولیـد و اسـتفاده از الکتـرون‌هـا و نهایتـاً تغییـر عملکـرد

*نویسنده مسئول: manouchehr.gholipoor@gmail.com

کوانتومی الکترون می‌گردد. نتیجه این امر، بروز اتلاف انرژی خورشیدی در فتوسیستم IIاهست (Weits *et al*., 2014). تغییر در انتقال الکترون فتوسنتزی گیاه در شرایط کم‌آبیاری از عوامل تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (رادیکال‌های آزاد) ازجمله پراکسید هیدروژن، سوپراکسید و هیدروکسیل به‌شمار می‌آید. علت این فرایند، عبارت از این واقعیت می‌باشد که اکسیژن در محل پذیرنده فتوسیستمI با NADP برای احیاء، رقابت می‌نماید. هورمونABA نیز از عواملی به‌شمار می‌آید که نقش عمده‌ای در تشکیل رادیکال‌های آزاد به‌عهده دارد. این هورمون گیاهی با تحریک فرایند بسته‌شدن روزنه‌ها باعث تقلیل اتلاف آب، کاهش تثبیت CO_2 و کم‌شدن احیای $NADP^+$ در چرخه کالوین می‌شود (Anbessa & Bejiga, 2002).

رادیکال‌های آزاد عمدتاً در کلروپلاست، میتوکندی و پراکسیزوم‌ها تولید می‌شوند. به‌عنوان نمونه، در فرایند تنفس نوری هنگامی‌که گلیکولات توسط آنزیم گلیکولات اکسیداز به گلی اکسیلیک اسید اکسید می‌گردد، H_2O_2 در پراکسیزوم‌ها تولید می‌شود (Noctor *et al*., 2017). شایان توجه است که رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های پایین (شرایط بدون تنش) به‌عنوان مولکول پیام‌رسان عمل نموده و در فرایندهای بیان ژن و متابولیسم سلول، به‌طور مثبت مشارکت می‌کنند. این در حالی است که با افزایش غلظت آن‌ها، تأثیر تخریبی و مضر بر سلول به‌جا گذاشته می‌شود. زیرا در این شرایط، اکسیدشدن پروتئین‌ها، رنگدانه‌های فتوسنتزی، اسیدهای چرب و اسیدهای نوکلوئیک رخ داده و کلروز و نکروزشدن بافت گیاه بروز می نماید (Gilroy *et al*., 2016). این تأثیر دوسویه مثبت و منفی رادیکال‌های آزاد باعث شده است که توجه زیادی به آن‌ها معطوف گردد.

پلی‌آمین‌ها هیدروکربن‌های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم و دارای زنجیره راست سه تا ۱۵کربنه و دو گروه آمینی انتهایی می‌باشند. اسیدهای آمینه آرژینین و اورنیتین پیش‌ماده بیوسنتز پلی‌آمین‌ها هستند. دو مسیر عمده برای سنتز پوتریسین از اسیدهای‌آمینه آرژینین و اورنیتین در سلول‌های گیاهی وجود دارد که این مسیرها را بر اساس آنزیم‌های کاتالیزکننده آن‌ها نام‌گذاری کرده‌اند. مسیر اول به‌عنوان مسیر اورنیتین دکربوکسیلاز و مسیر دوم مسیر آرژنین دکربوکسیلاز است. پس از سنتز پوتریسین، در مراحل بعدی پلی‌آمین‌های بزرگ‌تر (اسپرمیدین) توسط آنزیم اسپرمیدین سینتاز با افزودن متوالی گروه‌های آمینوپروپیل به پوتریسین سنتز می‌شوند (Pál *et al*., 2015). بر اساس مطالعات، در گیاهان تحت تنش، ترکیب‌های پلی‌آمینی آندوژن ازجمله اسپرمیدین افزایش می‌یابند که در اصل پاسخ دفاعی گیاه به تنش اکسیداتیو به‌شمار می‌رود (Wallace *et al*., 2003). نتایج آزمایش‌ها حاکی از آن است که کاهش سطوح پلی‌آمین‌ها در موتانت‌های نخود منجر به افزایش صدمه تنش خشکی به گیاه می‌گردد (Anbessa & Bejiga, 2002; Kakkar & Sawhney, 2002).

بر همین اساس، هدف از این آزمایش مطالعه امکان کاهش اثرات مضر کم‌آبیاری بر رشد و عملکرد نخود از طریق محلول‌پاشی اسپرمیدین بود. طی این آزمایش، واکنش برخی صفات و فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدان به این پلی‌آمین مطالعه گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌صورت کرت‌های خُردشده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال۱۳۹۵ اجرا شد. شهرستان شاهرود با طول جغرافیایی ۵۴درجه و ۵۷دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶درجه و ۲۵دقیقه شمالی دارای اقلیم سرد و خشک می‌باشد. ارتفاع مکان مورد استفاده در آزمایش از سطح دریا ۱۳۶۷متر است.

در اوایل اردیبهشت‌ماه، اقدام به آماده‌سازی زمین شد. هر کرت آزمایشی شامل چهار ردیف کشت به طول پنج‌متر و فواصل۵۰سانتی‌متر (مساحت ۱۰مترمربع) بود و فاصله بذور روی ردیف‌های کاشت۱۰سانتی‌متر درنظرگرفته شد. یک خط به‌صورت نکاشت به‌عنوان حایل بین کرت‌های اصلی قرار گرفت. جوی‌های آبیاری به‌نحوی تعبیه‌شدند که آب آبیاری اضافی هر تکرار توسط یک جوی خروجی در انتهای کرت‌ها از مزرعه خارج گردد. بذور نخود در اول خردادماه به‌عنوان کشت دوم (پس از برداشت جو) با دست کشت گردید. بذر مورداستفاده در این آزمایش، توده محلی نخود بود که از منطقه بسطام تهیه گردید. تراکم گیاهی برابر با ۲۰بوته در مترمربع درنظرگرفته شد.

تیمارهای آزمایش شامل رژیم‌های آبیاری (توزیع‌شده در کرت‌های اصلی) در سه سطح (دور آبیاری هفت‌روز (آبیاری معمول منطقه؛ شاهد)، دور آبیاری ۱۰روز و دور آبیاری ۱۳روز) و محلول‌پاشی برگی اسپرمیدین در سه سطح (شاهد (پاشش آب بر گیاه)، غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶میلی‌مولار) در زمان چهار برگی (۲۰خرداد)، گلدهی (۱۶مرداد) و شیری‌شدن دانه (۳شهریور) بود. انتخاب این سطوح اسپرمیدین، بر اساس نتایج آزمایش گلدانی انجام‌شده توسط نگارندگان در خصوص تأثیر سطوح این پلی‌آمین بر سه گیاه نخود، عدس و لوبیای روئیده در تنش کم‌آبیاری بود (نتایج منتشر نشده). آبیاری به روش جوی و پشته انجام شد و تا استقرار کامل گیاه (تکمیل مرحله

سبزشدن گیاه)، آبیاری کامل اعمال گردید. برای اندازه‌گیری صفات موردسنجش، اقدام به نمونه‌برداری شد. بدین منظور، دو ردیف کشت کناری هر کرت به‌عنوان حاشیه درنظرگرفته شد. دو بوته از ابتدا و انتهای دو ردیف کشت میانی نیز اثر حاشیه‌ای به‌حساب آمد.

در مرحله خمیری‌شدن دانه، اقدام به سنجش محتوای نسبی کلروفیل برگ توسط دستگاه کلروفیل‌سنج اسپد (SPAD) شد. در همین مرحله نموی، نمونه‌هایی از برگ‌های فوقانی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گوایکول پراکسیداز تهیه گردید. سپس اقدام به استخراج عصاره گردید. بدین منظور، مخلوط واکنش با حجم سه‌میلی‌لیتر تهیه شد که شامل ۲/۸میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰میلی‌مولار با pH= ۶/۸ و عصاره آنزیمی بود. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، آب‌اکسیژنه ۰/۴۵مولار به مخلوط واکنش اضافه شد. اضافه کردن آب‌اکسیژنه به مخلوط واکنش، به‌عنوان شروع فعالیت آنزیمی درنظرگرفته شد. یک دقیقه اول بعد از افزودن آب اکسیژنه، کاهش میزان جذب نور در طول‌موج ۲۴۰نانومتر یادداشت گردید. درنهایت فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس ضریب خاموشی (ε) برابر با ۴۰ $mM^{-1}cm^{-1}$ در دقیقه به ازای یک‌میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Cavalcanti *et al.*, 2004).

همانند آنزیم کاتالاز، اضافه‌کردن آب‌اکسیژنه به مخلوط واکنش، به‌عنوان شروع فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز درنظرگرفته شد. پس از سپری‌شدن یک‌دقیقه، تغییر جذب نور در طول‌موج ۴۷۰نانومتر یادداشت گردید. درنهایت، فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تتراگوایکول تشکیل‌شده و با استفاده از ضریب خاموشی (ε) برابر با ۲۶/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه گردید (Cavalcanti *et al.*, 2004).

برای اندازه‌گیری صفات زیست‌توده، عملکرد دانه و تعداد غلاف در بوته، اقدام به برداشت گیاهان در زمان رسیدگی در سطحی برابر با هفت‌ونیم مترمربع شد. پس از خشک‌شدن بوته‌ها در هوای آزاد به مدت پنج‌روز، اقدام به توزین بوته‌ها توسط ترازوی با دقت ۰/۰۱گرم گردید و مقدار زیست‌توده و عملکرد دانه تعیین شد. شایان ذکر است که بلافاصله پس از برداشت و پنج‌روز بعد از برداشت، نمونه‌هایی جهت تعیین درصد رطوبت دانه و کاه و کلش تهیه، و به‌مدت ۴۸ساعت در آون با دمای ۶۰درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد. نتایج اولیه حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار تیمارها و برهمکنش آن‌ها بر درصد رطوبت دانه، و کاه و کلش تهیه‌شده در زمان‌های برداشت و پنج‌روز پس از برداشت بود. متوسط درصد رطوبت دانه و کاه و کلش پس از خشک‌شدن در هوای آزاد، به ترتیب حدود ۱۴ و ۱۳درصد به‌دست آمد.

دانه‌های سه بوته برداشت‌شده در زمان رسیدگی برای تعیین درصد پروتئین دانه مورد استفاده قرار گرفت. درصد پروتئین دانه به روش کجلدال اندازه‌گیری گردید. بدین منظور، یک گرم از بافت خوب پودرشده به بالن‌های مخصوص کجلدال منتقل شد و کاتالیزور واجد یک‌ونیم گرم سولفات پتاسیم و ۰/۱۵گرم سولفات مس به هر فلاسک اضافه گردید. برای انجام عمل هضم، ۲۰میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه شد و بالن‌ها به درون اجاق مخصوص انتقال داده‌شدند. زمان تغییر رنگ محلول سیاه‌رنگ داخل فلاسک‌ها به رنگ سبز بسیار کم رنگ به‌عنوان پایان عمل هضم درنظرگرفته شد. میزان نیتروژن نمونه‌ها پس از سردشدن محلول‌ها در دمای آزمایشگاه توسط دستگاه کجلدال سنجیده شد. دستگاه دارای سه مخزن آب مقطر، سود سوزآور۴۰درصد و اسید بوریک۱۰درصد بود. پس از قرارگرفتن هر فلاسک در دستگاه، ۲۰میلی‌لیتر آب‌مقطر و۳۰میلی‌لیتر سود سوزآور۴۰درصد به نمونه اضافه‌شده و با فشار بخارآب عمل تقطیر انجام گرفت. از اسیدکلریدریک ۰/۱نرمال برای تیتراسیون استفاده شد. با توجه به مقدار اسیدکلریدریک مصرف‌شده در تیتراسیون، مقدار نیتروژن موجود در نمونه تعیین شد. برای نخود، ضریب تبدیل نیتروژن ۵/۳ درنظرگرفته شد (Bradford, 1976).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارMSTATC انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمونLSD در سطح احتمال متناسب با سطح احتمال معنی‌دارشدن مندرج در جدول تجزیه واریانس استفاده شد.

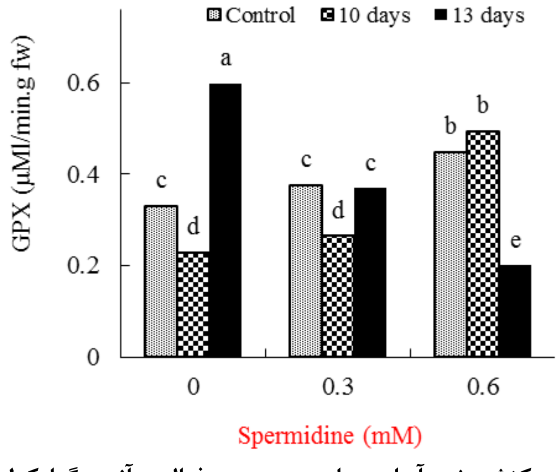
نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌های گوایکول پراکسیداز و کاتالاز: نتایج نشان داد که در شرایط عدم استفاده از اسپرمیدین، دور -آبیاری۱۰روز باعث کاهش فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز به-میزان ۳۱درصد گردید (شکل ۱). این در حالی است که دور -آبیاری ۱۳روز، فعالیت آن را به سطحی بالاتر از شاهد افزایش (۸۰درصد) داد. در شرایط دور آبیاری ۱۳روز، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین به‌کاررفته، فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز کاهش نشان داد. بر اساس شیب خط رگرسیون محاسبه‌شده، میزان کاهش برابر با حدود ۰/۰۷میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر به ازای ۰/۱میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین بود. در شرایط شاهد، اختلاف معنی‌داری بین سطوح صفر و ۰/۳میلی‌مولار اسپرمیدین از لحاظ فعالیت این آنزیم وجود نداشت. برای دور آبیاری ۱۰روز نیز این حالت

صادق بود. در کل، ۰/۶میلی‌مولار باعث افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط دورهای آبیاری هفت‌روز (۳۶درصد) و ۱۰روز (۱۱۶درصد) نسبت به شرایط عدم‌استفاده از آن گردید. گوایکول پراکسیداز آنزیمی مؤثر در تجزیه پراکسید هیدروژن می‌باشد که با کمک آسکوربات زدودن پراکسید هیدروژن را انجام می‌دهد. آسکوربات دهنده الکترون بوده و سبب کاهش پراکسید هیدروژن به آب می‌شود. ازآنجاکه توازن بین گونه‌های فعال اکسیژن و پالاینده‌ها برای ادامه حیات ضروری می‌باشد، گیاه در پاسخ به تنش اکسیداتیو ایجادشده، میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را زیاد نموده که به‌دنبال آن‌ها، فعالیت آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی افزایش پیدا می‌کند (Noctor *et al*., 2017).

اثرات اصلی تیمارها بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار به‌دست آمد، ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد. بین سطوح صفر(شاهد) و ۰/۶میلی‌مولار اسپرمیدین ازلحاظ فعالیت این آنزیم، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. این سطوح اسپرمیدین دارای بالاترین (حدود ۹۸درصد بیشتر از شاهد) فعالیت آنزیم کاتالاز بودند (شکل ۲). در دور آبیاری ۱۰روز، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از لحاظ آماری مشابه فعالیت آن در شرایط شاهد بود. ولی در شرایط دور آبیاری ۱۳روز، فعالیت این آنزیم به حدود ۸۰درصد بالاتر از شاهد افزایش یافت. کاتالاز از آنزیم‌های مهم برای حذف پراکسید هیدروژن موجود در پروکسیزوم‌ها به‌شمار می‌رود. وجود پراکسید هیدروژن در گیاه از این نظر حائز اهمیت است که در غلظت‌های متوسط، به‌عنوان مولکول علامت عمل نموده و در سنتز پیش‌ماده‌های پروتئین دیواره سلولی مشارکت دارد؛ ولی در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی بوده و آسیب‌های اکسیداتیو را به‌دنبال دارد (Terzi & Kadioglu, 2006). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز به گیاه این امکان را می‌دهد تا خود را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت نمایند. میزان افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های متحمل روییده در شرایط کم‌آبیاری به‌مراتب بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس به‌دست آمده است (Gao *et al*., 2014).

کاهش خطی فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز در اثر افزایش غلظت اسپرمیدین به‌کاررفته در دور آبیاری ۱۳روز و همچنین کاهش (۴۸درصد) فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط محلول‌پاشی گیاه با اسپرمیدین ۰/۳میلی‌مولار ممکن است تأییدی بر گزارش‌های قبلی در خصوص توانایی ترکیبات پلی آمینی در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد و بهبود ثبات و پایداری بخشی به غشاء باشد (Gupta *et al*., 2013). شواهد آزمایشی حاکی از آن است که کاربرد خارجی پوتریسین میزان پلی‌آمین‌ها در غشاهای تیلاکوئیدها را افزایش داده است. این نتایج با کاربرد خارجی اسپرمین نیز تکرار گردیده است (Shu *et al*., 2013). همچنین بر اساس گزارش پژوهشگران، افزودن پلی‌آمین‌ها به گیاهان تحت تنش موجب ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ماکرومولکول‌ها شده و افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی ازجمله گلوتاتیون و کاروتنوئیدها را به‌دنبال داشته است (Queval *et al*., 2011). گزارش‌هایی نیز وجود دارد که پلی‌آمین‌ها باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند (Shu *et al*., 2013).



شکل ۱- برهمکنش رژیم آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز

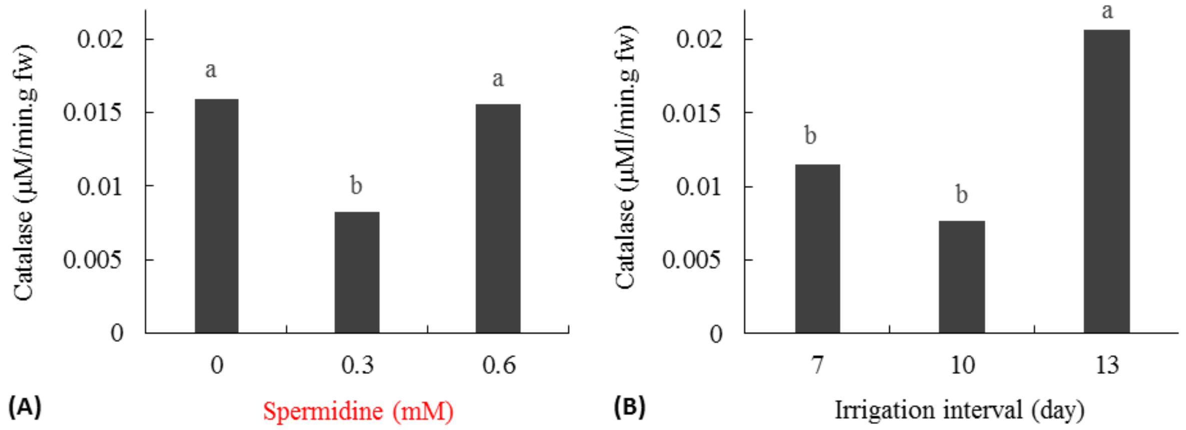
حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

GPX: گوایکول پراکسیداز

Fig. 1. Interactive effects of irrigation regime and spermidine on guaiacol peroxidase enzyme activity

The bars with similar letter are not significantly different ($p\leq 0.01$) by LSD test.

GPX: guaiacol peroxidase



شکل ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح مختلف اسپرمیدین (A) و رژیم آبیاری (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 2. Mean comparison of catalase enzyme acitvity for different levels of spermidine (A) and irrigation regime (B)

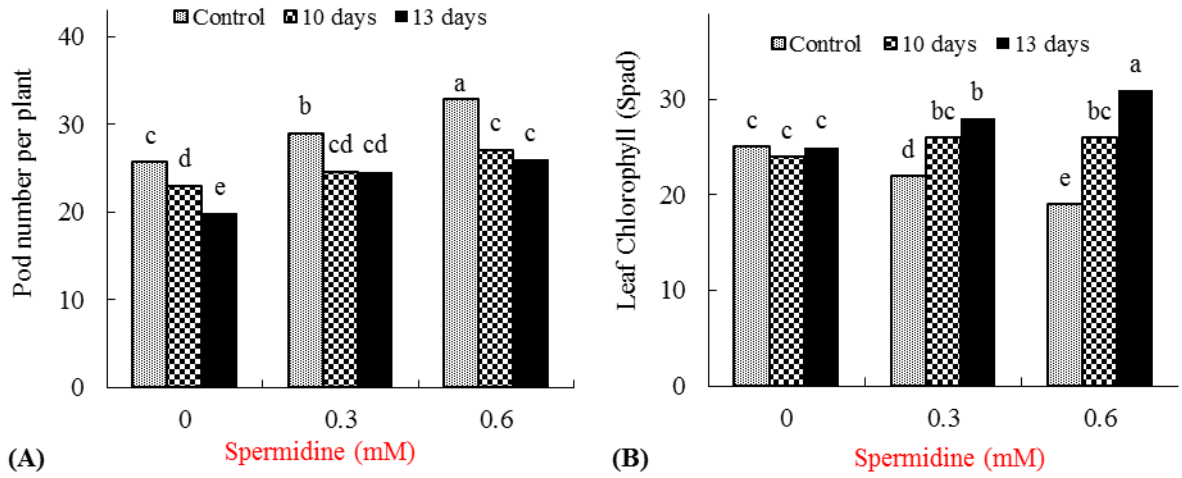
The bars with similar letter are not significantly different (p≤ 0.01) by LSD test.

محتوای نسبی کلروفیل برگ: در شرایط عدم استفاده از اسپرمیدین، اختلاف معنی‌داری بین سطوح آبیاری از لحاظ محتوای نسبی کلروفیل برگ وجود نداشت (شکل ۳)؛ ولی در سطوح دیگر اسپرمیدین، متناسب با افزایش دور آبیاری، محتوای نسبی کلروفیل برگ افزایش یافت. بر اساس شیب خط رگرسیون در سطح ۰/۳میلی‌مولار اسپرمیدین، به‌ازای یک‌روز افزایش در دور آبیاری، محتوای نسبی کلروفیل برگ به میزان حدود یک عدد اسپد بیشتر شد. در سطح ۰/۶میلی‌مولار اسپرمیدین، این افزایش حدود دو عدد اسپد به‌ازای یک‌روز افزایش در دور آبیاری بود. بالاترین محتوای نسبی کلروفیل برگ در تیمار اسپرمیدین با غلظت ۰/۶میلی‌مولار و در دور آبیاری ۱۳روز حاصل شد. در شرایط شاهد، اسپرمیدین باعث کاهش محتوای نسبی کلروفیل برگ گردید. بر اساس گزارش ها، در شرایط بدون تنش‌های غیرزنده، نیتروژن موجود در پلی-آمین ها باعث کاهش سنتز پیش‌ماده کلروفیل یعنی پروتوکلروفیلاید می‌گردد (Shu *et al.*, 2013). در شرایط استفاده از اسپرمیدین، تنش خشکی باعث افزایش محتوای نسبی کلروفیل برگ گردید. یافته‌های مربوط بررسی اثر تنش خشکی بر چند واریته کلزا حاکی از اثر افزایشی تنش خشکی بر محتوای کلروفیل در برخی ارقام و کاهش محتوای کلروفیل در ارقام دیگر بوده است (Sepehri & Golparvar, 2011). این تفاوت‌ها به متغیربودن فعالیت آنزیم کلروفیلاز نسبت داده شده است.

به‌طورکلی، در دور آبیاری ۱۳روز، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، محتوای نسبی کلروفیل برگ نیز به‌طور خطی افزایش (یک عدد اسپد به‌ازای ۰/۱میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین) نشان داد که این امر بر تأثیر مثبت اسپرمیدین بر وضعیت فتوسنتزی نخود دلالت دارد. نقش‌های حفاظتی اسپرمیدین در ممانعت از کاهش کلروفیل در برنج نیز اثبات شده است (Saleethong *et al.*, 2011). در پژوهش‌های انجام‌شده مشخص شده است که مقدار کل کلروفیل برگ تیمارشده با پلی‌آمین‌ها در مقایسه با شاهد افزایش یافته و پیری به تأخیر می‌افتد (Minocha *et al.*, 2014). پلی‌آمین‌ها نقشی امیدبخش در استحکام‌بخشی پروتئین‌های فتوسنتزی الگومریک به‌ویژه پروتئین‌های اتصال‌شونده به کلروفیل a و b را به‌عهده دارند (Gupta *et al.*, 2013). پلی‌آمین‌ها به‌عنوان ترکیبات خنثی‌کننده اسیدهای آلی، گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش داده و پراکسیداسیون لیپیدها را کم می‌نمایند. این امر به‌صورت کاهش مالون دی‌آلدئید در بافت منعکس می‌گردد و تجزیه کلروفیل را کاهش می‌دهد (Sen *et al.*, 2014). پلی آمین‌ها به لحاظ ایجاد برهمکنش با ماکرومولکول‌هایی نظیر DNA، RNA، و کمپلکس‌های نسخه‌برداری و بیان ژن، سنتز کلروفیل را افزایش داده و همچنین باعث افزایش پایداری غشای اندامک‌های سلول می‌گردند (Minocha *et al.*, 2014). افزایش کلروفیل در گیاهان پلی‌آمین دریافت کرده به افزایش بیان ژن‌های کدکننده سنتز پروتئین کیناز و آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز آبسزیک اسید، جاسمونیک اسید نسبت داده شده است (Zepeda-Jazo *et al.*, 2016).

تعداد غلاف در بوته: دور آبیاری بالاتر باعث کاهش تعداد غلاف در بوته شد (شکل ۳) که می‌تواند مربوط به عواملی ازجمله ریزش گل‌ها قبل از گرده‌افشانی یا اختلال در گرده افشانی باشد (Liu *et al.*, 2004). در هر یک از سطوح آبیاری،

متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، تعداد غلاف در بوته افزایش (به‌طور متوسط، حدود یک غلاف در بوته به‌ازای ۰/۱میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین) نشان داد (شکل۳). این امر می‌تواند نشان‌گر اثر افزایشی اسپرمیدین بر گل‌های بارور گیاه باشد.



شکل ۳- برهمکنش رژیم آبیاری و اسپرمیدین بر تعداد غلاف در بوته (A) و محتوای نسبی کلروفیل برگ (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 3. Interactive effects of irrigation regime and spermidine on pod number per plant (A) and relative leaf chlorophyll content (B)

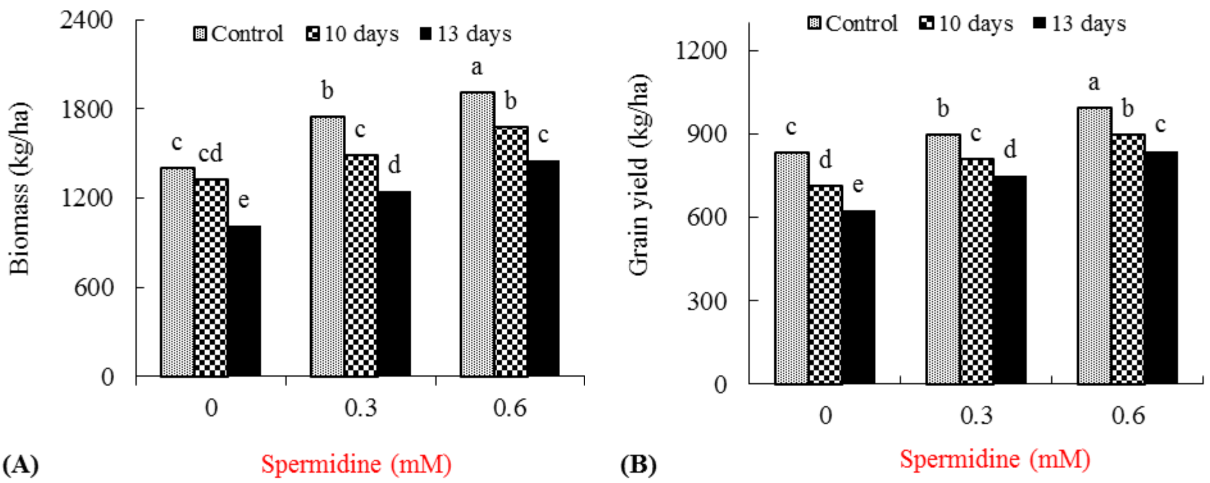
The bars with similar letter are not significantly different ($p\leq 0.01$) by LSD test.

زیست‌توده و عملکرد دانه: در هر یک از سطوح دور آبیاری، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، زیست‌توده و عملکرد دانه افزایش یافت (شکل ۴) که بر تقلیل اثرات منفی دور آبیاری زیاد توسط اسپرمیدین دلالت دارد. باتوجه به میانگین شیب خط رگرسیون، به‌ازای ۰/۱میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین، میزان افزایش در زیست‌توده و عملکرد دانه به ترتیب برابر با ۷۲ و ۳۱کیلوگرم در هکتار بود. بالاترین عملکرد دانه در شرایط آبیاری معمول و محلول‌پاشی با غلظت ۰/۶میلی‌مولار و کمترین آن نیز در بالاترین دور آبیاری و عدم استفاده از اسپرمیدین حاصل شد. اسپرمیدین ۰/۶میلی‌مولار توانست اثر مخرب دور آبیاری متوسط و زیاد را بر عملکرد دانه به ترتیب به میزان ۲۰درصد و ۳۴درصد کاهش دهد.

به‌طورکلی، این دو صفت از بیشترشدن دور آبیاری تأثیر منفی پذیرفتند (شکل۴). به‌طور متوسط، میزان کاهش زیست توده و عملکرد دانه به‌ازای یک‌روز افزایش در دور آبیاری برابر با ۷۴ و ۲۸ کیلوگرم در هکتار بود که می‌تواند ناشی از عوامل مختلف ازجمله عوامل‌روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای و همچنین تنش اکسیداتیو باشد (Noctor *et al*., 2002). پلی‌آمین‌ها ازجمله اسپرمیدین به‌دلیل این‌که یک منبع نیتروژنی هستند، می‌توانند رشد گیاه را تحریک کنند (Alcázar *et al*., 2006). تأثیر مثبت آن‌ها بر رشد به‌دلیل اتصال این ترکیبات به مولکول‌های غیریونی از قبیل DNA و RNA است که در بسیاری از فرآیندهای درون گیاه شامل تقسیم و بزرگ‌شدن سلول، توسعه و تشکیل میوه نقش دارند (Do *et al*., 2016).

درصد پروتئین دانه: دور آبیاری ۱۰روز موجب کاهش حدود سه‌درصدی پروتئین دانه نسبت به شاهد (دور آبیاری هفت‌روز) شد، اما دور آبیاری ۱۳روز تأثیری بر آن نداشت (شکل ۵). در شرایط تنش خشکی به‌خصوص در مرحله پرشدن غلاف، به‌واسطه کاهش طول دوره پرشدن دانه و کاهش فتوسنتز خالص، تغییراتی در تجمع نشاسته در دانه رخ می‌دهد. از طرف دیگر، متابولیسم ترکیبات نیتروژن‌دار ازجمله آمیدها نیز از تنش خشکی تأثیر می‌پذیرد. میزان تأثیرپذیری متابولیسم نیتروژن و تجمع کربوهیدرات‌ها در دانه، اثر تعیین‌کننده‌ای بر نسبت (درصد) پروتئین دانه به‌جای می‌گذارد (Minocha *et al*., 2014). در این آزمایش، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، درصد پروتئین دانه نیز افزایش یافت (شکل۵)؛ به‌طوری‌که در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶میلی‌مولار اسپرمیدین، درصد پروتئین دانه به ترتیب حدود سه و هفت درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. تأثیر مثبت اسپرمیدین بر درصد پروتئین دانه ممکن است به‌این‌علت باشد که این ترکیب، سرشار از یون نیتروژن بوده و این عنصر را به سهولت در اختیار گیاه قرار می‌دهد (Pál *et al*., 2015).

معنی‌دارنشدن اثر متقابل دور آبیاری و اسپرمیدین بر درصد پروتئین دانه این امر را گوشزد می‌نماید که کاربرد اسپرمیدین باعث بهبود تغذیه‌ای (پروتئین) دانه نخود در کلیه دورهای آبیاری می‌گردد.

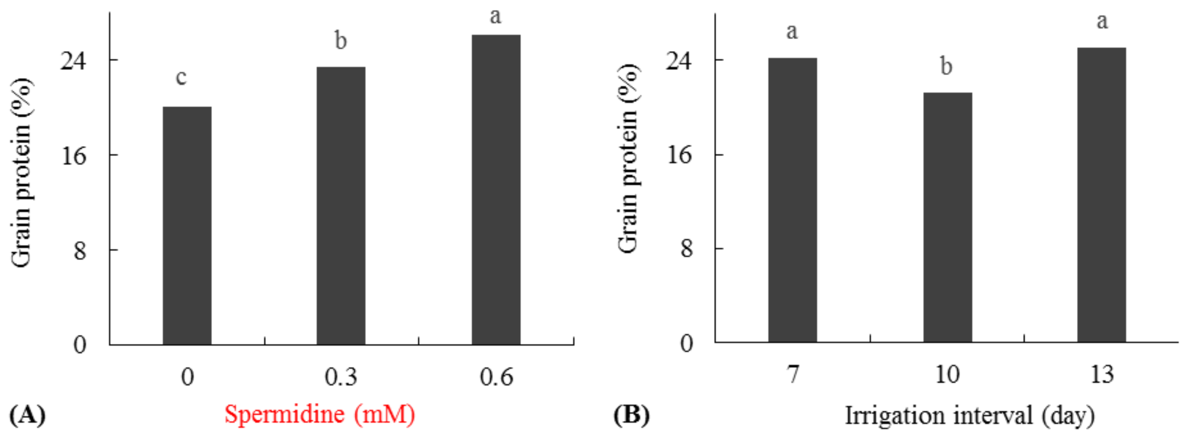


شکل ۴- برهمکنش رژیم آبیاری و اسپرمیدین بر زیست‌توده (A) و عملکرد دانه (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 4. Interactive effects of irrigation regime and spermidine on biomass (A) and grain yield (B)

The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.



شکل ۵- مقایسه میانگین درصد پروتئین دانه در سطوح مختلف اسپرمیدین (A) و رژیم آبیاری (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 5. Mean comparison of grain protein percent for different levels of spermidine (A) and irrigation regime (B)

The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که افزایش دور آبیاری، کلیه صفات مورد بررسی را تحت تأثیر قرار داد. کاربرد پلی‌آمین اسپرمیدین در سه مرحله چهاربرگی، گلدهی و شیری‌شدن دانه توانست تأثیر منفی افزایش دور آبیاری را بر رشد و عملکرد دانه نخود زراعی کاهش دهد. این امر در راستای افزایش محتوای نسبی کلروفیل برگ و افزایش تعداد غلاف در بوته (کاهش ریزش گل و افزایش گل‌های بارور) بود. افزون بر این، تغییراتی نیز در فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گوایکول پراکسیداز به وقوع پیوست. اسپرمیدین ۰/۶میلی‌مولار توانست بالاترین تأثیر افزایشی را بر عملکرد دانه (۱۹درصد، ۲۰درصد و ۳۴درصد، به ترتیب در دورهای آبیاری هفت، ۱۰ و ۱۳روز) به‌جای گذارد. بر همین اساس، اسپرمیدین ۰/۶میلی‌مولار به عنوان بهترین سطح تیمار برای شرایط وجود و عدم‌وجود تنش خشکی شناخته شد.

منابع

1. Alcázar, R.F., Marco, J.C., Cuevas, M., Patrón, A., Ferrando, P., and Carrasco, A.F. 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. Biotechnological Letters 28: 1867-1876.
2. Anbessa, Y., and Bejiga, G. 2002. Evaluation of ethiopian chickpea landraces for tolerance to drought. Genetic Resources and Crop Evolution 49: 557-564.
3. Ashori, A., Gholipoor, M., and Heydari, M. 2019. Effect of spermine and spermidine sparaying on growth and some physiological traits of chickpea. Iranian Journal of Pulses Research 10(2) (In Press). (In Persian with English Summary).
4. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
5. Cavalcanti, F.R., Oliveira, J.T.A., Martins-Miranda, A.S., Viégas, R.A., and Silveira, J.A.G. 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. New Phytologist 163: 563-571.
6. Do, P.T., Degenkolbe, T., Erban, A., Heyer, A.G., Kopka, J., Köhl, K.I., Hincha, D.K., and Zuther, E. 2016. Dissecting rice polyamine metabolism under controlled long-term drought stress. Plus One 8: 1-14.
7. Gao, X., Yuan, H.M., Hu, Y.Q., Li, J., and Lu, Y.T. 2014. Mutation of Arabidopsis CATALASE2 results in hyponastic leaves by changes of auxin levels. Plant and Cell Environment 37: 175-88.
8. Gilroy, S., Bialasek, M., Suzuki, N., Gorecka, M., Devireddy, A.R., Karpinski, S., and Mittler, R. 2016. ROS, calcium, and electric signals: key mediators of rapid systemic signaling in plants. Plant Physiology 171: 1606-1615.
9. Goldani, M., and Rezvani, P. 2007. The effects of different irrigation regimes and planting dates on phenology and growth indices of three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars in Mashhad. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 14: 229-242. (In Persian with English Summary).
10. Gupta, K., Dey, A., and Gupta, B. 2013. Plant polyamines in abiotic stress responses. Acta Physiologiae Plantarum 35: 2015-2036.
11. Kafi, M., Ganjeali, A., and Abbasi, F. 2006. Study of changes in leaf abscisic acid (ABA) and stomatal resistance in drought resistant and sensitive genotypes of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Science Journal of Tehran University 33(4): 26-19 (In Persian with English Summary).
12. Kakkar, R.K., and Sawhney, V.K. 2002. Polyamine research in plants: a changing perspective. Physiologia Plantarum 116: 281-292.
13. Kashiwagi, J., Krishnamurthy, L., Upadhyaya, H.D., Krishna, H., Chandra, S., Vadez, V., and Serraj, R. 2005. Genetic variability of drought-avoidance root traits in mini-core germplasm collection of chickpea. Euphytica 146: 213-222.
14. Liu, H.P., Dong, B.H., Zhang, Y.Y., Liu, Z.P., and Liu, Y.L. 2004. Relationship between osmotic stress and the levels of free conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings. Plant Science 166: 1261-1267.
15. Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., and Yang, R. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in sixwoody plant species in Karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany 71: 174-183.
16. Minocha, R., Majumdar, R., and Minocha, S.C. 2014. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. Frontiers in Plant Science 5: 175-184.
17. Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S.D., Driscoll, S., Novitskaya, L., and Foyer, C.H. 2002. Drought and oxidative load in wheat leaves. A predominant role for photorespiration? Annals of Botany 89: 841-850.
18. Noctor, G., Reichheld, J.P., and Foyer, C.H. 2017. ROS-related redox regulation and signaling in plants. Seminars in Cell and Developmental Biology 25: 112-119.
19. Padhi, E.M.T., and Ramdath, D.D. 2017. A review of the relationship between pulse consumption and reduction of cardiovascular disease risk factors. Journal of Functional Foods 38: 635-643.
20. Pál, M., Szalai, G., and Janda, T. 2015. Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. Plant Science 237: 16-23.
21. Queval, G., Jaillard, D., Zechmann, B., and Noctor, G. 2011. Increased intracellular H_2O_2 availability preferentially drives glutathione accumulation in vacuoles and chloroplasts. Plant Cell Environment 34: 21-32.
22. Saleethong, P., Sanitchon, J., Kong-Ngern, K., and Theerakulpisut, P. 2011. Pretreatment with spermidine reverses inhibitory effects of salt stress in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance. Asian Journal of Plant Science 24: 23-32.

23. Sen, G., Eryilmaz, I.E., and Ozakca, D. 2014. The effect of aluminum stress and exogenous spermidine on chlorophyll degradation, glutathione reductase activity and the photosystem II D1 protein gene (psbA) transcript level in lichen (*Xanthoria parietina* L.). Phytochemistry 98: 54-59.
24. Sepehri, A., and Golparvar, A.R. 2011. The effect of drought stress on water relations, chlorophyll content and leaf area in canola cultivars (*Brassica napus L.*). Electronic Journal of Biology 7: 49-53.
25. Shu, S., Yuan, L.Y., Guo, S.R., Sun, J., and Yuan, Y.H. 2013. Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. Plant Physiology and Biochemistry 63: 209-216.
26. Singh, J., Singh, K.P., Mehta, O.P., and Malik, R.S. 1991. Seasonal consumptive use, moisture extraction pattern and water use efficiency of Kabuli gram (*Cicer arietinum* L.) cultivars under different levels of irrigation. Agricultural Digest 11: 142-144.
27. Terzi, R., and Kadioglu, A. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 48: 89-96.
28. Wallace, H.M., Fraser, A.V., and Hughes, A. 2003. A perspective of polyamine metabolism. Biochemistry Journal 376: 1-14.
29. Weits, D.A., Giuntoli, B., Kosmacz, M., Parlanti, S., Hubberton, H.M., Riegler, H., Hoefgren, R., Perata, P., van Dongen, J.T., and Licausi, F. 2014. Plant cysteine oxidases control the oxygen-dependent branch of the N-end rule pathway. Nature Communication 5: 3425-3432.
30. Zepeda-Jazo, I., Velarde-Buendía, A.M., Enríquez-Figueroa, R., Jayakumar, B., Shabala, S., and Muñiz, J. 2016. Polyamines interact with hydroxyl radicals in activating Ca^{2+} and K^{+} transport across the root epidermal plasma membranes. Plant Physiology 157: 2167-2180.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 11, No. 1, 2020, p. 187-197 (Research Article)

Alleviation of low-irrigation effects on chickpea (*Cicer arietinum* L.) using spermidine

Sharifi[1], V., Gholipoor[2*], M. & Abbasdokht[3], H.

1. MSc. Student in Agroecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Semnan Province, Iran; vsharifi543@gmail.com
2. Associate Professor in Agricultural Ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Semnan Province, Iran
3. Associate Professor in Agricultural Ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Semnan Province, Iran; habbasdokht@yahoo.com

Received: 9 June 2018
Accepted: 20 November 2018

DOI: 10.22067/ijpr.v11i1.73059

Introduction

Chickpea is one of the pulse crops and its protein percent is about 22 to 24 percent. Therefore it plays an important nutritional role in human being diet. All plants, including chickpea, experience physiological changes and decreased growth while facing water deficit. Change in photosynthetic electron transport under low-irrigation conditions is one of the factors causing formation of reactive oxygen species (free radicals) including oxygen peroxide, super oxide and hydroxyl (oxidative stress). These free radicals are mainly produced in chloroplast, mitochondrion, and peroxisomes which could inflict destructive and harmful effects on plant cells. In stressed plants, the endogenous polyamine compounds are increased which is mainly a defensive response of plant to oxidative stress. Polyamines are aliphatic hydrocarbons with low molecular weight, straight chain of 3 to 15 carbons, which arginine and ornithine amino acids are their precursor. There are two major biosynthetic pathways for putrescine including ornithine decarboxylase and arginine decarboxylase. After putrescine synthesis, the larger polyamines (spermidine) are synthesized. This process is catalyzed by spermidine synthase through consecutively adding aminopropyl groups to putrescine. This experiment aimed to study the possibility of decreasing harmful effects of low-irrigation on growth and yield of chickpea through spermidine spraying.

Materials & Methods

This study was carried out as split plot based on complete blocks design with three replications in research farm of Shahrood University of Technology in 2016 in which the chickpea was sown in June as a secondary planting. The experimental treatments were irrigation regimes (distributed in main plots) in three levels (control (the conventional irrigation; 7-day interval irrigation), 10-day interval irrigation, and 13-day interval irrigation) and spermidine spraying in three levels (control (spraying of water on plant), concentration of 0.3 and 0.6 mM) at 4-leaf, flowering and milky stages. The studied traits were biomass, grain yield, number of pods per plant, grain protein percent, chlorophyll content and activities of catalase and guaiacol peroxidase enzymes.

Results & Discussions

The results indicated that under 13-day interval irrigation conditions, the activity of guaiacol peroxidase decreased with increasing concentration of spermidine (About 0.07 µM/min.g fw for 0.1 mM increase in spermidine concentration). No significant difference was found between zero (control) and 0.6 mM in terms of catalase enzyme; these spermidine levels appeared to have the highest activity of catalase enzyme. Under 10-day interval irrigation conditions, the catalase activity amount was statistically similar to its activity under control conditions. However, under 13-day interval irrigation conditions, the activity of mentioned enzyme was almost 80% higher than control. The linear decrease of guaiacol peroxidase activity with increasing spermidine concentration under 13-day interval irrigation conditions and also decrease in catalase enzyme activity under spraying plant with 0.3 mM spermidine may confirms the previous reports regarding the capability of polyamine compounds in direct elimination of free radicals and promoting stability and

*Corresponding Author: manouchehr.gholipoor@gmail.com

conserving the membrane. The experimental evidences have indicated that the application of exogenous potrisine has increased the polyamines amount in thylakoid membranes; these results have also been repeated by application of exogenous spermidine. Under 13-day interval irrigation conditions, the relative leaf chlorophyll content appeared to be linearly increased with enhancing the spermidine concentration (One Spad value for 0.1 mM increase in spermidine concentration). In each irrigation regimes, the number of pod per plant was proportionally increased with increasing spermidine concentration (Averagely, about one pod per plant for 0.1 mM increase in spermidine concentration). In each irrigation regimes, the biomass and grain yield were proportionally increased with increasing spermidine concentration (For 0.1 mM increase in spermidine concentration, the average increase in biomas and grain yield was about 72 and 31 Kg/ha, respectively), which proves that spermidine alleviates the harmful effects of low-irrigation. The 0.6 mM spermidine could alleviate the harmful impacts of 10- and 13-day irrigation regimes on grain yield by 20% and 34%, respectively. Proportional to spermidine concentration, grain protein content got increased (About one percent for 0.1 mM increase in spermidine concentration). So that for 0.3 and 0.6 mM spermidine concentrations, the grain protein content was higher than control by 3% and 6%, respectively.

Conclusion

The results indicated that imposing low-irrigation stress affected all measured traits. The application of spermidine polyamine at three stages of 4-loaf, flowering and milky stages caused some changes in activity of antioxidant enzymes catalase and guaiacol peroxidase. These changes took place along with increasing chlorophyll content and number of pod per plant (decreasing flower abortion and enhancing fertile flowers). The changes in the mentioned traits were some of the reasons for spermidine-resulted alleviating the negative effects of low-irrigation on growth and grain yield of chickpea. The 0.6 mM spermidine was found to be the best treatment level for both drought stress and no drought stress conditions.

Keywords: Free radicals, Photosynthesis, Water use efficiency